

**EST. QA ARLETT GISELA GÓMEZ CARRASCO**

Se extiende la presente

**CONSTANCIA**

Por su colaboración con la Exposición del Tema

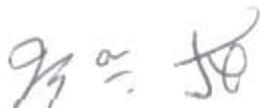
**Proceso de extracción y determinación de compuestos antioxidantes en una muestra de *Sargassum spp***

Presentado en el

**2º Seminario Estudiantil PAPIME 210820**

**Sargazo: Contribución de la Química Analítica desde la Docencia e Investigación Formativa  
(en línea, 15 Participantes Grupo de Investigación PAPIME)**

Viernes 9 de octubre del 2020, Cd. Universitaria, Coyoacán, CDMX.



---

**Dra. Ma. Teresa de Jesús Rodríguez Salazar**  
Responsable Proyecto PAPIME PE210820  
Depto. de Q. Analítica, Facultad de Química, UNAM



---

**Dra. Flora Emperatriz Mercader Trejo**  
Universidad Politécnica de Santa Rosa Jáuregui



---

**Dra. Olivia Zamora Martínez**  
Co-Responsable Proyecto PAPIME PE210820  
Depto. de Q. Analítica, F.Q./LANGEM, Inst. de Geol., UNAM



---

**Dr. Raúl Herrera Basurto**  
Universidad Tecnológica de Querétaro



**PROCESO DE  
EXTRACCIÓN Y  
DETERMINACIÓN DE  
COMPUESTOS  
ANTIOXIDANTES EN  
UNA MUESTRA DE  
*SARGASSUM SPP.***

Universidad Nacional Autónoma de  
México  
Facultad de Química  
Departamento de Química Analítica

Proyecto PAPIME PE210820  
EST. Q.A. Gómez Carrasco Arlett Gisela  
Dra. Minerva Monroy Barreto

# INTRODUCCIÓN

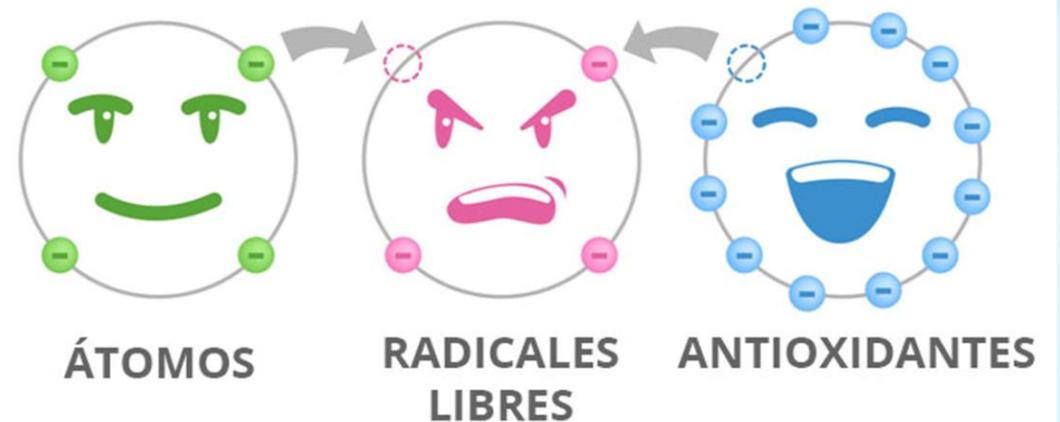
- Reservorio de compuestos biológicamente activos
- Consumidas como parte de la dieta porque poseen compuestos como: **ácidos grasos omega-6, antioxidantes, carotenoides y compuestos fenólicos.**

(Pinto, D. C., 2020)



# INTRODUCCIÓN

- Antioxidantes son inhibidores del proceso de oxidación de lípidos
  - Causa de enfermedades cardiovasculares, cáncer, disfunción cerebral y procesos de envejecimiento
  - Desarrollo de rancidez y sabores extraños en los alimentos



# INTRODUCCIÓN

- Antioxidantes sintéticos como el hidroxibutilanisol (BHA), el butilhidroxitolueno (BHT) y la terc-butilhidroquinona (TBHQ)
  - Disponibles comercialmente
  - Su seguridad y toxicidad son problemas de gran inquietud (Ito, N. *et al.*, 1986; Wattenberg, L. W., 1999)



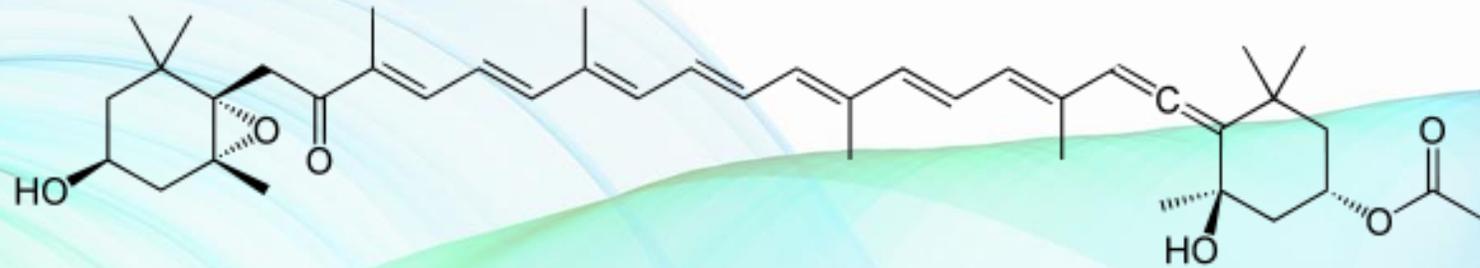
# INTRODUCCIÓN

- Compuestos fenólicos vegetales poseen actividad antioxidante
- Algas son una fuente rica de antioxidantes
  - Fucoxantina en *Hijikia fusiformis* (Yan, X. J. *et al.*, 1999)
  - Florotaninos en *Sargassum kjellamianum* (Yan, X. J. *et al.*, 2002)
  - Desarrollo de antioxidantes de origen natural

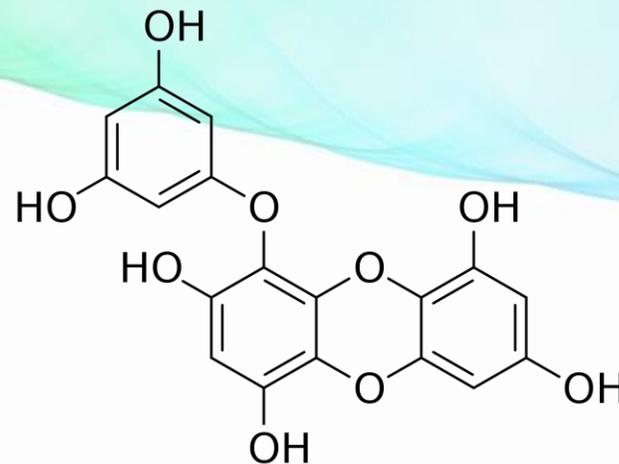


# INTRODUCCIÓN

- Fucoxantina en *Hijikia fusiformis* (Yan, X. J. *et al.*, 1999)

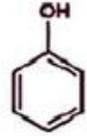


- Florotaninos en *Sargassum kjellamanianum* (Yan, X. J. *et al.*, 2002)

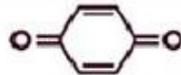


# INTRODUCCIÓN

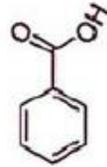
## Otros compuestos antioxidantes Compuestos fenólicos



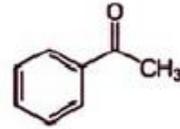
Fenoles  
simples



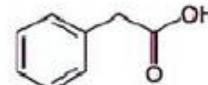
Benzoquinonas



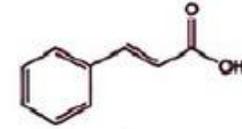
Ácidos  
fenólicos



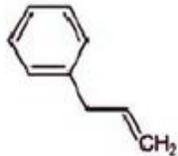
Acetofenonas



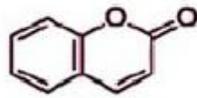
Ácidos  
fenilacéticos



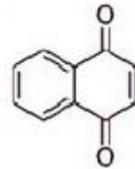
Ácidos  
hidroxicinámicos



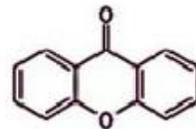
Fenilpropenos



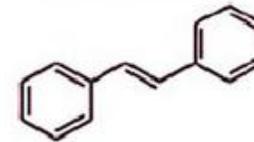
Cumarinas



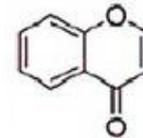
Naftoquinonas



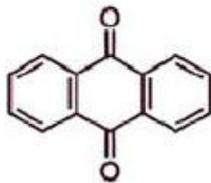
Xantonas



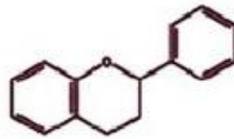
Estilbenos



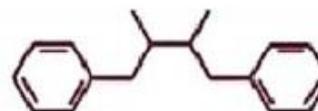
Cromonas



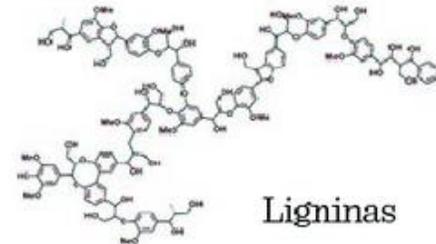
Antraquinonas



Flavonoides



Lignanós



Ligninas

# DESARROLLO

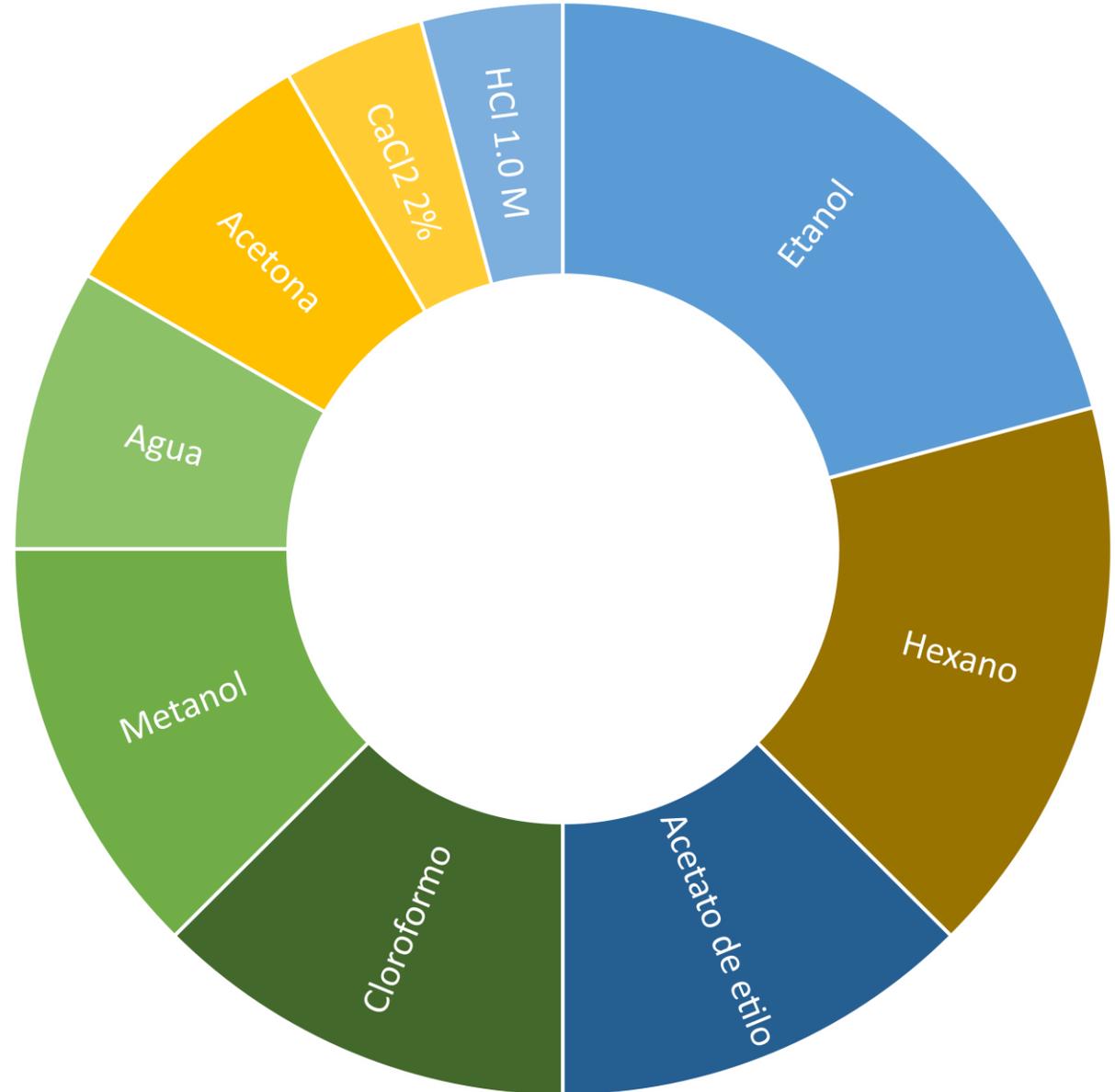
Especie de alga	Tratamiento físico	Proceso de extracción			Referencia
		Disolvente	Equipo	Tiempo	
<i>Sargassum siliquastrum</i>	Lavado, liofilización y molienda	Metanol	Soxhlet	6 horas	[6]
<i>Sargassum serratum</i>	Lavado, secado y molienda	Etanol, acetona, cloroformo, acetato de etilo y n-hexano	Centrifugador	0.5-2.5 horas 8-48 horas (Variable)	[7]
<i>Sargassum sp.</i>	Secado al sol, lavado, secado en horno (50°C, 24 hrs), liofilización, molienda y tamizado	Etanol y agua (50:50)	Agitador orbital	24 horas	[8]
<i>Sargassum siliquastrum</i>	Secado y pulverizado	Hexano, cloroformo, etanol y agua destilada	Mezclador, papel filtro, rotavapor	24 horas	[9]
<i>Sargassum serratifolium</i>	Secado al aire y molienda	Acetato de etilo, metanol, etanol, hexano, cloroformo, acetona, agua	Incubadora, papel filtro, rotavapor conectado al vacío	24 horas	[10]

# DESARROLLO

		Proceso de extracción			
Especie de alga	Tratamiento físico	Disolvente	Equipo	Tiempo	Referencia
<i>Sargassum fusiforme</i>	Lavado, secado (50°C), molienda y almacenamiento (-20 °C)	Agua caliente	Centrifugador	3 horas	[11]
		Ácido clorhídrico (1.0 M)		6 horas	
		CaCl <sub>2</sub> 2%		3 horas	
<i>Sargassum glaucescens</i>	Lavado, secado (50°C). Proceso de compresión: temperaturas de 140,180 y 220°C por 10 s, molienda y almacenamiento (4°C)	Etanol al 95%	Máquina de compresión: MIBO R2, Yuan Chuang Food Machinery Co., Ltd., Taiwan Centrifugador, baño maría	4 horas	[12]
<i>Sargassum elegans</i>	Almacenada en congelación	Metanol, diclorometano-metanol (2:1). Hexano, acetato de etilo, hexano-acetato de etilo	Cromatografía de columna Merck Kieselgel 60 (0.040–0.063 mm), sistema HPLC Whatman Magnum 10 Partisil 9 column (1 50 cm), procesos electro-analíticos Potentiostat/Galvanostat 30 (PGSTAT 30)	2 horas aprox.	[13]

# DESARROLLO

Diferentes disolventes utilizados en el proceso de extracción



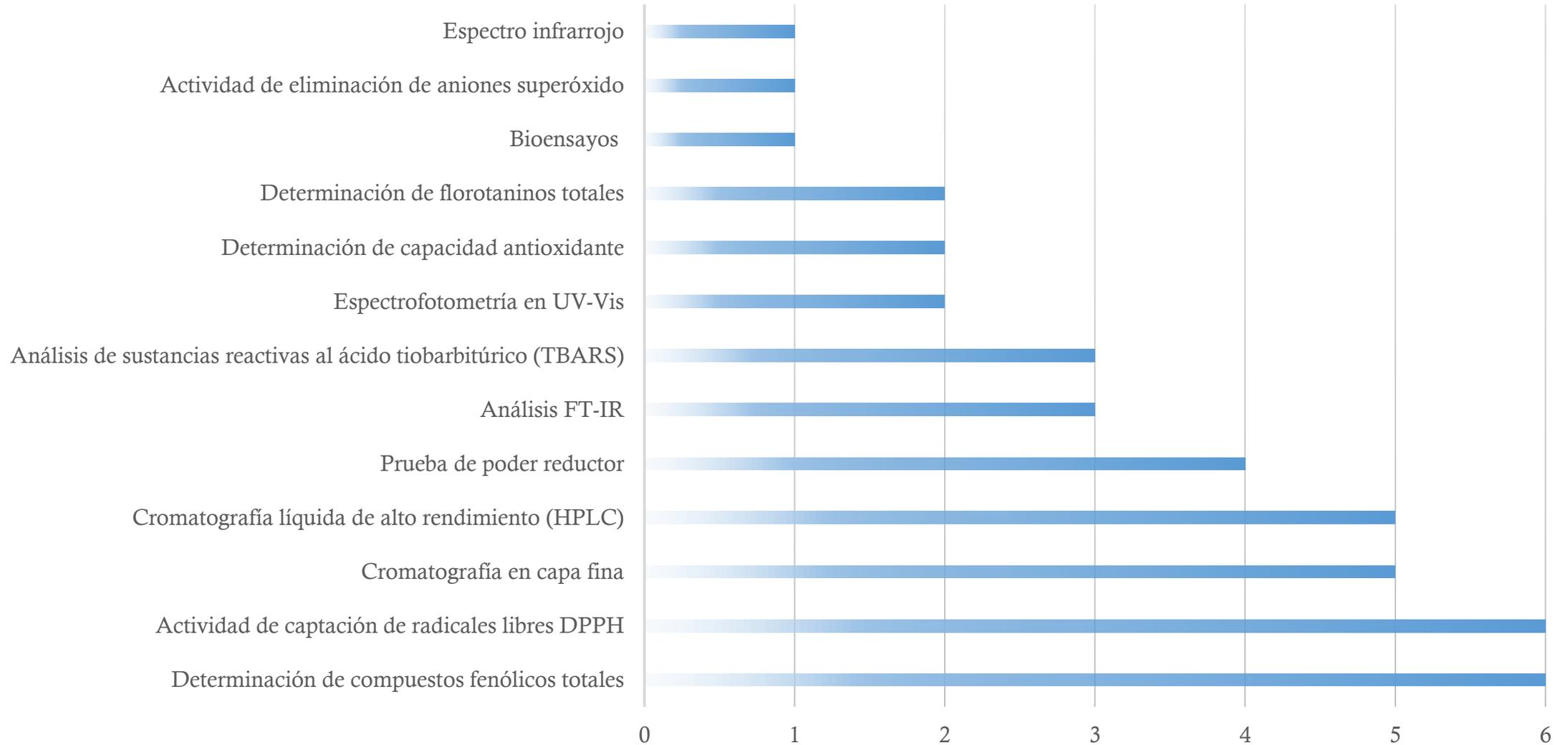
# DESARROLLO

Disolvente utilizado en la extracción	Compuesto	Pruebas realizadas	Referencia
Metanol	Compuestos fenólicos totales	Determinación de compuestos fenólicos totales	[6]
		Peroxidación de lípidos	
		Actividad de eliminación de aniones superóxido	
		Espectro infrarrojo (500-4000 cm <sup>-1</sup> )	
		Espectrofotometría en UV-Vis	
Etanol 70%	Compuestos fenólicos totales	Determinación de compuestos fenólicos totales	[15]
		Determinación de actividad antioxidante	
Etanol, acetona, cloroformo, acetato de etilo y n-hexano	Florotaninos totales	Determinación de florotaninos totales	[7]
		Determinación de capacidad antioxidante	
		Prueba de poder reductor	
Etanol: agua (50:50)	Compuestos fenólicos totales	Determinación de compuestos fenólicos totales	[8]
		Actividad de eliminación de radicales libres DPPH	
Hexano, cloroformo, etanol y agua destilada	Mojabancromanol, una especie de cromeno	Análisis de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS)	[9]
		Actividad de eliminación de radicales DPPH	
		Prueba de poder reductor	

Disolvente utilizado en la extracción	Compuesto	Pruebas realizadas	Referencia
Agua caliente, ácido clorhídrico (1.0 M), Cloruro de calcio (2%)	Fucoïdan	Actividad de eliminación de radicales DPPH	[11]
		Actividad de eliminación de radicales hidroxilo	
Acetato de etilo, metanol, etanol, hexano, cloroformo, acetona, agua	Ácido sargahidroquinico (SHQA), ácido sargaquinico (SQA) y sargacromanol (SCM)	Determinación de compuestos fenólicos totales	[10]
		Actividad de eliminación de radicales DPPH	
		Actividad de eliminación de radicales ABT's	
		Actividad de eliminación de radicales superóxido	
		Actividad de eliminación de radicales hidroxilo	
Cuantificación de componentes mediante HPLC			
Etanol 95%	Fucoïdan	Actividad de eliminación de radicales DPPH	[12]
		Actividad de eliminación de radicales ABT's	
		Actividad quelante de iones ferrosos	
		Prueba de poder reductor	
Metanol, diclorometano-metanol (2:1). Hexano, acetato de etilo, hexano-acetato de etilo	Ácido sargaquinico, fucoxantina	Análisis mediante voltamperometría cíclica	[13]
Extracción asistida por enzimas	Compuestos fenólicos totales	Contenido total fenólico	[14]

# DESARROLLO

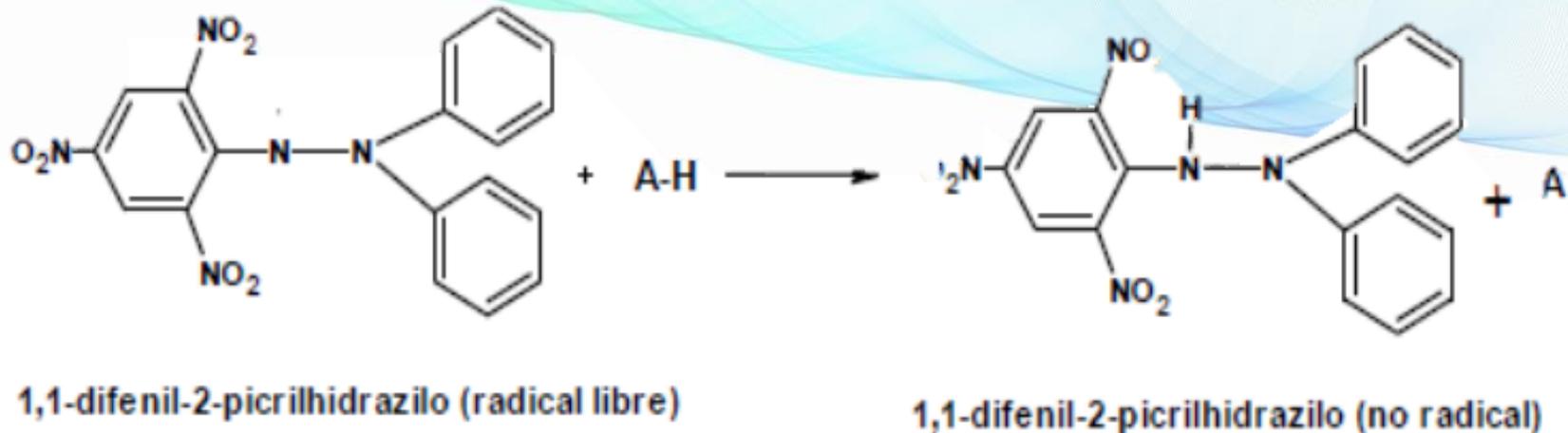
## PRUEBAS REALIZADAS



# DESARROLLO

## Fundamentos de las pruebas realizadas

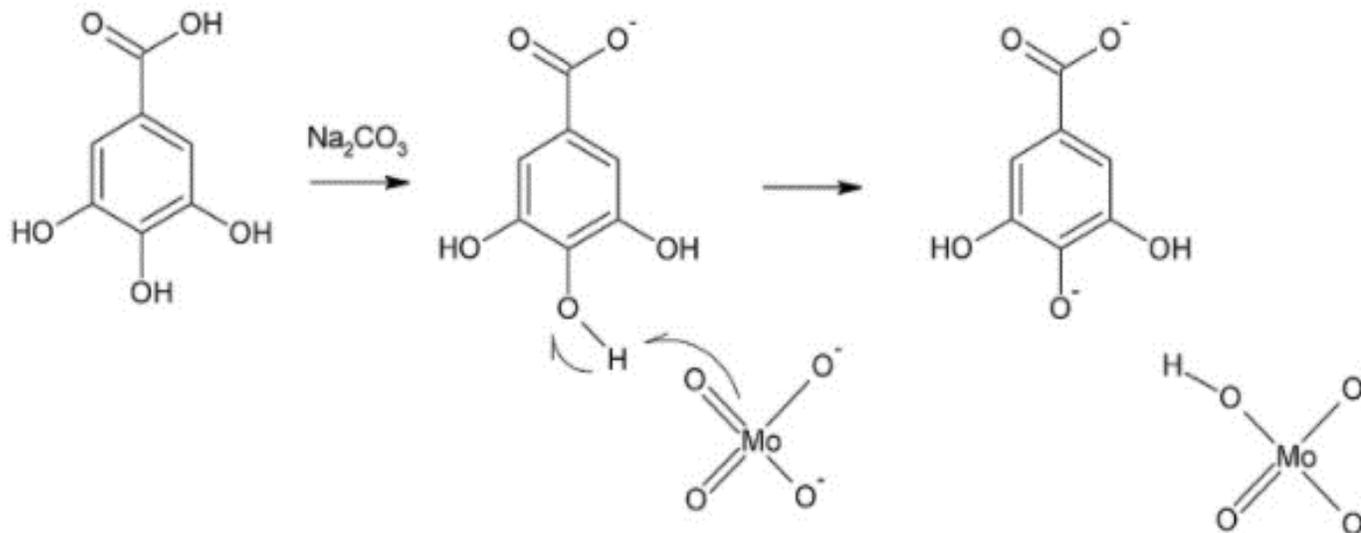
- Ensayo de decoloración del radical 1-1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH)
  - La deslocalización del electrón intensifica el color violeta intenso típico del radical, el cual absorbe en metanol a 517 nm (Bohórquez Fajardo, R., 2016)



# DESARROLLO

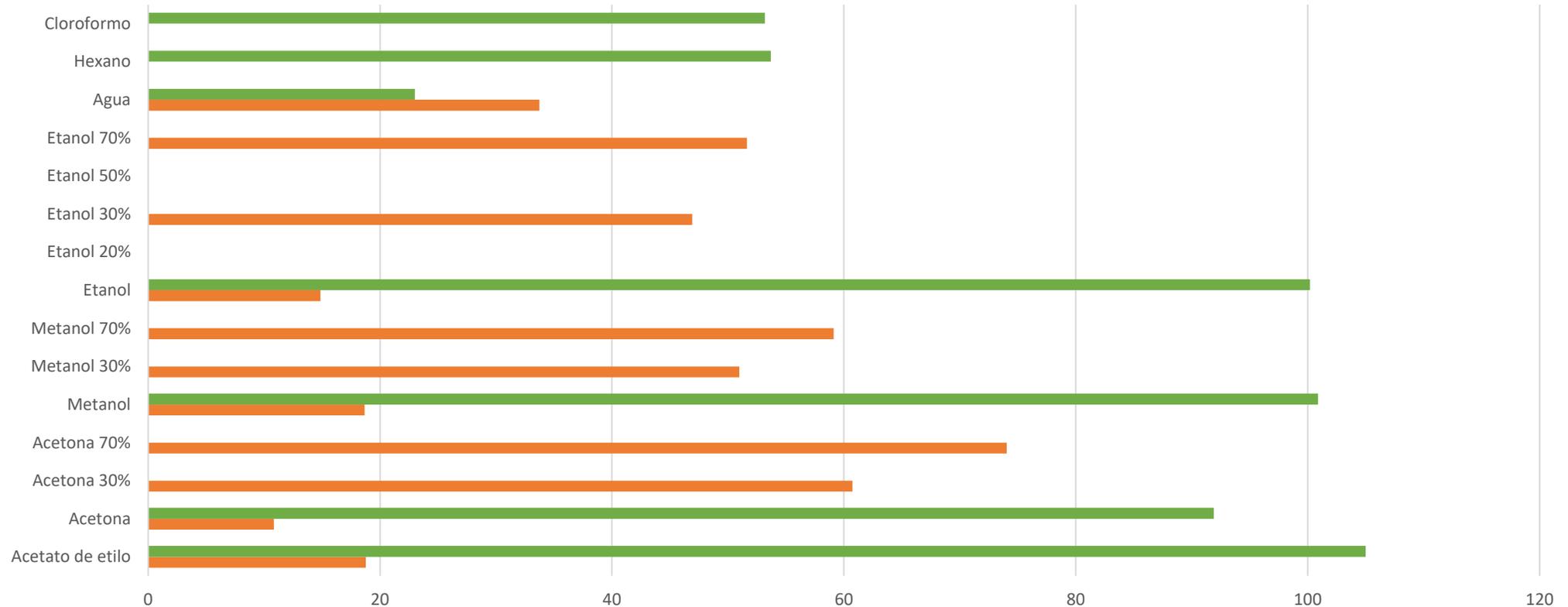
## Fundamentos de las pruebas realizadas

- Determinación de compuestos fenoles totales por método de Folin-Ciocalteu
  - El reactivo de Folin-Ciocalteu reacciona con sustancias oxidables en un medio alcalino, desarrollando coloración azul (Núñez-Gastélum, J. A. *et al.*, 2017)



# DESARROLLO

## Determinación de compuestos fenólicos totales por método de Folin-Ciocalteu



	Acetato de etilo	Acetona	Acetona 30%	Acetona 70%	Metanol	Metanol 30%	Metanol 70%	Etanol	Etanol 20%	Etanol 30%	Etanol 50%	Etanol 70%	Agua	Hexano	Cloroformo
■ Ref. 10	105	91,9			100,9			100,2					23	53,7	53,2
■ Ref. 15	18,77	10,84	60,73	74,05	18,68	50,98	59,13	14,87		46,92		51,65	33,74		

GAE (mg / g ácido gálico equivalente)

# DESARROLLO

Fundamentos de pruebas para determinar compuestos antioxidantes

- Ensayo de decoloración con el radical catiónico Acido 2,2'-Azino-bis-3-Etilbenzotiazolin-6-Sulfónico (ABTS<sup>+</sup>)
  - El ABTS<sup>+</sup> es oxidado hasta formar el catión radical ABTS<sup>•+</sup>, el cual presenta un intenso color verde-azul
  - Capacidad Antioxidante Equivalente al Trolox (TEAC)
  - Evalúa antioxidantes hidrofílicos y lipofílicos de extractos de plantas



# DESARROLLO

Fundamentos de pruebas para determinar compuestos antioxidantes

- Actividad reductora del hierro férrico/poder antioxidante (Ensayo FRAP)
  - Reducción de un complejo formado por un cromógeno, normalmente de TPTZ (2, 4, 6- tripiridil-s-triazina) y hierro férrico incoloro ( $\text{Fe}^{3+}$ ) a un complejo ferroso ( $\text{Fe}^{2+}$ ) de un intenso color azul verdoso en un medio ácido
  - Debido al potencial redox del complejo  $\text{Fe}^{3+}$ -TPTZ (0.7 V), el ensayo es capaz de detectar compuestos con un menor potencial redox

# PERSPECTIVAS

- Elaborar un protocolo experimental para el tratamiento de muestra de sargazo que permita obtener la mayor cantidad de compuestos antioxidantes.
- Realizar un protocolo para identificar la presencia de los compuestos antioxidantes en el extracto obtenido.
- Realizar pruebas en el laboratorio para optimizar los protocolos experimentales.
- Evaluar el extracto para una posible aplicación como producto antioxidante.

# AGRADECIMIENTOS

- Proyecto PAPIME PE210820
- Jefe de Departamento de Química Analítica: José de Jesús García Valdés
- Responsable del proyecto: Dra. Ma. Teresa de J. Rodríguez S.
- Colaboradores del proyecto
  - Académicos
    - Dra. Olivia Zamora
    - Dra. Flora Mercader T. (UPSRJ)
    - Dr. Raúl Herrera B. (UTEQ)
    - Dr. Julio C. Aguilar C.
    - Mtra. Iliana Zaldívar C.
    - Ing. J. Adolfo Martínez O.
  - Estudiantes
    - Analaura Skadal M.
    - Caterin Gutiérrez S.
    - Alan A. Abán E.
    - Ariana J. Morales V.
    - Ilse P. Bernal E.
    - Esperanza E. Mendoza S.
    - Stephany R. Arenas

# BIBLIOGRAFÍA

1. Pinto, D. C. (Ed.). (2020). *Seaweeds Secondary Metabolites: Successes in and/or Probable Therapeutic Applications*. MDPI.
2. Ito, N.; Hirose, M.; Fukushima, S.; Tsuda, H.; Shira, T.; Tatematsu, M. Studies on antioxidants: Their carcinogenic and modifying effects on chemical carcinogenesis. *Food Chem. Toxicol.* 1986, 24, 1071-1082.
3. Wattenberg, L. W. Protective effects of 2(3)-tert-butyl-4- hydroxyanisole on chemical carcinogenesis. *Food Chem. Toxicol.* 1986, 24, 1099-1102
4. Yan, X. J.; Chuda, Y.; Suzuki, M.; Nagata, T. Fucoxanthin as the major antioxidant in *Hijikia fusiformis*, a common edible seaweed. *Biosci., Biotechnol., Biochem.* 1999, 63, 605-607
5. Yan, X. J.; Li, X. C.; Zhou, C. X.; Fan, X. Prevention of fish oil rancidity by phlorotannins from *Sargassum kjellmanianum*. *J. Appl. Phycol.* 1996, 8, 201-203
6. Lim, S. N., Cheung, P. C. K., Ooi, V. E. C., & Ang, P. O. (2002). Evaluation of antioxidative activity of extracts from a brown seaweed, *Sargassum siliquastrum*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(13), 3862-3866.
7. Boi, V. N., Cuong, D. X., & Vinh, P. T. K. (2017). Effects of extraction conditions over the phlorotannin content and antioxidant activity of extract from brown algae *Sargassum serratum* (Nguyen Huu Dai 2004). *Free Radicals & Antioxidants*, 7(1).
8. Norra, I., Aminah, A., & Suri, R. (2016). Effects of drying methods, solvent extraction and particle size of Malaysian brown seaweed, *Sargassum* sp. on the total phenolic and free radical scavenging activity. *International Food Research Journal*, 23(4), 1558.
9. Cho, S. H., Cho, J. Y., Kang, S. E., Hong, Y. K., & Ahn, D. H. (2008). Antioxidant activity of mojabanchromanol, a novel chromene, isolated from brown alga *Sargassum siliquastrum*. *J. Environ. Biol*, 29, 479-484.
10. Lim, S., Choi, A. H., Kwon, M., Joung, E. J., Shin, T., Lee, S. G., ... & Kim, H. R. (2019). Evaluation of antioxidant activities of various solvent extract from *Sargassum serratifolium* and its major antioxidant components. *Food chemistry*, 278, 178-184.
11. Liu, J., Wu, S. Y., Chen, L., Li, Q. J., Shen, Y. Z., Jin, L., ... & Tong, H. B. (2020). Different extraction methods bring about distinct physicochemical properties and antioxidant activities of *Sargassum fusiforme* fucoidans. *International journal of biological macromolecules*, 155, 1385-1392.
12. Huang, C. Y., Wu, S. J., Yang, W. N., Kuan, A. W., & Chen, C. Y. (2016). Antioxidant activities of crude extracts of fucoidan extracted from *Sargassum glaucescens* by a compressional-puffing-hydrothermal extraction process. *Food chemistry*, 197, 1121-1129.
13. Ragubeer, N., Limson, J. L., & Beukes, D. R. (2012). Electrochemistry-guided isolation of antioxidant metabolites from *Sargassum elegans*. *Food chemistry*, 131(1), 286-290.
14. Casas, M. P., Conde, E., Domínguez, H., & Moure, A. (2019). Ecofriendly extraction of bioactive fractions from *Sargassum muticum*. *Process Biochemistry*, 79, 166-173.
15. Dang, T. T., Bowyer, M. C., Van Altena, I. A., & Scarlett, C. J. (2018). Optimum conditions of microwave-assisted extraction for phenolic compounds and antioxidant capacity of the brown alga *Sargassum vestitum*. *Separation science and Technology*, 53(11), 1711-1723.
16. Bohórquez Fajardo, R. (2016). *Determinación de actividad antioxidante de extractos de hojas de *Diplostephium phyllicoides* (Kunth) Wedd* (Bachelor's thesis).
17. Núñez-Gastélum, J. A., Aguirre, T., Alejandro, G., de la Rosa, L. A., Rodrigo-García, J., Ayala Zavala, J. F., & Alvarez-Parrilla, E. (2017). Nuevo acercamiento a la interacción del reactivo de Folin-Ciocalteu con azúcares durante la cuantificación de polifenoles totales. *Producto de investigación ICB*.
18. García Alonso, F. J. (2008). Evaluación in vitro e in vivo de la funcionalidad de un producto rico en antioxidantes. *Murcia, España: Universidad de Murcia*.